

黄冬妍,吴双双,邵丛丛,等. 低剂量 BPA 和 DEHP 对成年大鼠前列腺 AKR1C3 的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33 (10): 38-44.

Huang DY, Wu SS, Shao CC, et al. Effects of low-dose BPA and DEHP on AKR1C3 expression in the adult rat prostate [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(10): 38-44.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.10.006

低剂量 BPA 和 DEHP 对成年大鼠前列腺 AKR1C3 的影响

黄冬妍^{1,2,3}, 吴双双^{1,3}, 邵丛丛^{1,2,3}, 苏欣^{1,2,3}, 杨荣富^{1,2,3}, 王凯玥^{1,3},
周萍^{1,2,3}, 吴建辉^{1,2,3*}

(1.上海市生物医药技术研究院,上海 200032;2.国家卫生健康委员会计划生育药具重点实验室,上海 200032;
3.复旦大学生殖与发育研究院,上海 200032)

【摘要】 目的 明确低剂量 BPA 和 DEHP 对成年大鼠前列腺 AKR1C3 的影响。方法 56 只成年雄性 SD 大鼠随机分成 7 组,每组 8 只,分别灌胃给予 BPA(10、30 和 90 $\mu\text{g/kg}$),DEHP(30、90 和 270 $\mu\text{g/kg}$)和溶媒,连续 4 周。动物于末次给药 24 h 后,麻醉后采血,剖取前列腺并分叶,利用 ELISA 法检测血清和前列腺中 AKR1C3 水平,利用免疫组化法分析各叶前列腺中 AKR1C3 的表达情况。**结果** 给予 BPA 后,腹侧前列腺 90 $\mu\text{g/kg}$ 剂量组 AKR1C3 表达显著性高于对照组($P<0.05$);背侧前列腺 10 $\mu\text{g/kg}$ 剂量组 AKR1C3 水平和蛋白表达均显著性高于对照组($P<0.01, P<0.001$)。给予 DEHP 后,270 $\mu\text{g/kg}$ 剂量组血清 AKR1C3 水平显著性高于对照组($P<0.001$),腹侧前列腺各组 AKR1C3 水平均显著性高于对照组($P<0.05, P<0.01$),270 $\mu\text{g/kg}$ 剂量组 AKR1C3 蛋白表达显著性高于对照组($P<0.05$);背侧前列腺 30 $\mu\text{g/kg}$ 和 90 $\mu\text{g/kg}$ 剂量组 AKR1C3 表达显著性高于对照组($P<0.001, P<0.05$)。**结论** 低剂量 BPA 和 DEHP 均能促进成年大鼠前列腺 AKR1C3 表达,但各叶前列腺对 BPA 和 DEHP 的敏感度有所不同。

【关键词】 环境内分泌干扰物;双酚 A;邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯;醛酮还原酶 1C3;雌激素;雄激素

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 10-0038-07

Effects of low-dose BPA and DEHP on AKR1C3 expression in the adult rat prostate

HUANG Dongyan^{1,2,3}, WU Shuangshuang^{1,3}, SHAO Congcong^{1,2,3}, SU Xin^{1,2,3}, YANG Rongfu^{1,2,3},
WANG Kaiyue^{1,3}, ZHOU Ping^{1,2,3}, WU Jianhui^{1,2,3*}

(1. Shanghai Institute for Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Shanghai 200032, China.
2. NHC Key Laboratory of Reproduction Regulation, Shanghai 200032. 3. Reproductive and Developmental Research Institute of Fudan University, Shanghai 200032)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of low doses of bisphenol A (BPA) and di (2-ethyl) hexyl phthalate (DEHP) on aldo-keto reductase 1C3 (AKR1C3) expression in adult SD rats. **Methods** Fifty-six adult male SD rats were randomly divided into seven groups ($n=8$ rats in each group) and administrated BPA (10, 30 and 90 $\mu\text{g/kg}$, i.

【基金项目】上海市自然科学基金(19ZR1444400)。

【作者简介】黄冬妍(1989—),女,硕士,助理研究员,研究方向:药物生殖药理毒理学研究。E-mail: hdy043@163.com

【通信作者】吴建辉(1976—),男,博士,研究员,研究方向:药物药理毒理学研究。E-mail: wujh_731@163.com

g.), DEHP (30, 90 and 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i. g.), or the vehicle once a day for 4 weeks. The animals were sacrificed on the day after the last treatment. Blood was collected, and prostate tissues were dissected and categorized into different lobes. Levels of AKR1C3 in serum and prostate were measured by an enzyme-linked immunosorbent assay, and AKR1C3 expression in each prostate lobe was analyzed by immunohistochemistry. **Results** After BPA administration, AKR1C3 expression in the ventral prostate was increased, and a significant difference was found in the 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ group ($P<0.05$). AKR1C3 protein expression in the dorsal prostate was increased, and a significant difference was found in the 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ group ($P<0.01$, $P<0.001$). After DEHP administration, the serum level of AKR1C3 in the 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ group was significantly higher than that in the control group ($P<0.001$), the AKR1C3 level in the ventral prostate was significantly higher than that in the control group ($P<0.05$, $P<0.01$), AKR1C3 protein expression was increased, and a significant difference was found in the 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ group ($P<0.05$). The AKR1C3 level in the dorsal prostate of the 30 and 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ groups was higher than that in the control group ($P<0.001$, $P<0.05$). **Conclusions** Low-dose BPA and DEHP promotes AKR1C3 expression in the prostate of adult SD rats, but the sensitivities of ventral and dorsal prostate lobes to BPA and DEHP are different.

【Keywords】 environmental endocrine disruptor; bisphenol A; Di (2-ethylhexyl) phthalate; aldo-keto reductase 1C3; estrogen; androgen

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

双酚 A (bisphenol A, BPA) 和邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(di (2-ethylhexyl) phthalate, DEHP) 是两种较为重要的环境内分泌干扰物 (environmental endocrine disruptors, EDCs), 广泛存在于填充剂原料、高分子材料、化妆品以及增塑剂中, 以类激素的形式产生生物学效应, 使体内原有的内分泌机能出现紊乱, 从而对生物或人体的生殖、神经和免疫系统等的功能产生影响^[1]。随着工业的发展, BPA 和 DEHP 环境暴露剂量及在人体内的蓄积量逐年上升。尽管美国食品与药物管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 和美国环保署 (U. S. Environmental Protection Agency, EPA) 将 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 视为每日摄入的“安全”剂量^[2], 但是 BPA 低水平暴露仍是一种潜在的破坏剂, 会对生殖系统如前列腺的生长发育产生影响。研究表明妊娠期口服 BPA (10 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$) 会导致雄性胎小鼠背外侧前列腺导管数量和体积增加; 青春期长期摄入 BPA (40 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$) 促进前列腺细胞增殖, 诱导沙鼠成年前列腺增生^[3]。同样作为一种常见的 EDC, DEHP 的低水平暴露研究相对较少, 有学者发现, 在典型的饮食方式下, 育龄妇女、青少年和婴儿 DEHP 暴露剂量分别为 5.7、8.1 和 42.1 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ ^[4]。欧洲食品安全局规定 DEHP 日耐受摄入剂量为 50 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$, 而 EPA 将 20 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 作为安全参考剂量^[5]。由于 BPA 和 DEHP 的广泛应用, 我们想明确在环境暴露剂量下两者对前列腺的影响, 为评估 EDCs 潜在的健康风险提供理论基础。

我们在前期研究中发现, 给予成年和老年大鼠

10~90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 BPA 能引起或促进前列腺增生, 0.01~1 nmol BPA 可以促进大鼠原代前列腺上皮细胞增殖, 30~270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DEHP 对老年大鼠前列腺有促进增生作用^[6-8]。BPA 和 DEHP 促进前列腺增生的作用主要通过模拟, 增强或抑制内源性雌激素活性, 干扰雄激素系统, 影响神经-内分泌作用以及诱导激素调控下细胞因子和通路的改变来实现^[6-8], 同时我们还发现在诱导成年大鼠前列腺增生中前列腺素 D₂ 合成酶基因 (prostaglandin D₂ synthase gene, PTGDS) 的转录水平上调^[6], 提示前列腺素合成酶基因调控可能与前列腺疾病的进展相关。

前列腺素合成酶 (prostaglandin synthase, PGS) 是与膜结合的多酶系统, 在体内的花生四烯酸代谢途中催化底物生成各种具有生理活性的前列腺素^[9], 主要包括环氧酶 2 (Cyclooxygenase-2, COX-2)、前列腺素 E 合成酶 (prostaglandin E synthase, PGES)、膜结合型前列腺素 E₂ 合成酶 1 (microsomal prostaglandin E₂ synthase-1, mPGES-1)、Lipocalin 型前列腺素 D 合成酶 (lipocalin-type prostaglandin D synthase, L-PGDS) 和前列腺素 F 合成酶 (prostaglandin F synthase, PGFS) 等。在 PGS 家族中, 多种前列腺素合成酶都具有激素反应性, 如 PGFS 是催化前列腺素 H₂ (prostaglandin H₂, PGH₂) 和前列腺素 D (prostaglandin D, PGD) 转化为前列腺素 F (prostaglandin F, PGF) 的末端酶, PGF 在雌性动物中的表达多与妊娠、动情周期、分娩相关, 雌激素水平升高可能促进 PGFS 的表达和 PGF 增多^[10]。醛酮还原酶 1C3 (aldo-keto reductase family 1 member

C3, AKR1C3) 是 PGFS 的一种, 可催化 5α -二氢睾酮(强雄激素) 转化为 3α -雄甾烷二醇(弱雄激素), $\beta 4$ -雄烯-3, 17 二酮(弱雄激素) 转化为睾酮(强雄激素), 将雌酮(弱雌激素) 转化为 17β 雌二醇(强雌激素) 等^[11]。AKR1C3 参与睾酮和雌激素代谢, 可以参与激素敏感性组织的生长发育和疾病发生发展中, 如乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、精子发生异常等^[12]。有研究表明, AKR1C3 位于雄激素合成通路终末端, 是前列腺癌(prostate cancer, PCa) 细胞合成睾酮和双氢睾酮的关键酶, 在一些 PCa 细胞中 AKR1C3 可通过激活雄激素受体(androgen receptors, AR) 信号通路放大外源低水平雄激素信号并增加自身雄激素合成^[13]。

我们还发现低剂量的 BPA 可以上调 COX-2 和 L-PGDS 的表达, 影响细胞增殖和凋亡, 从而诱导前列腺增生^[14]。BPA 和 DEHP 作为典型的环境内分泌干扰物, 是否还能影响其他前列腺素合成酶的表达? 目前还鲜少有人研究。因此, 本文将初步探讨环境暴露剂量下 BPA 和 DEHP 对前列腺种 AKR1C3 的影响, 研究结果将为前列腺疾病的发生机制提供理论支持。

1 材料和方法

1.1 实验动物

56 只成年雄性 SD 大鼠(SPF 级), 6~7 周龄, 接收时体重 140~160 g, 购自浙江维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(浙)2019-0001]。在上海市生物医药技术研究院[SYXK(沪)2019-0012]屏障系统内饲养至 3 月龄, 室温 20~26℃, 相对湿度 40%~70%, 光照和黑暗各 12 h; 用大小鼠高压饲料喂养, 自由饮水。动物实验已通过上海市生物医药技术研究院动物实验伦理审查批件(2019-28), 严格按照 3R 原则给予人道关怀。

1.2 主要试剂与仪器

BPA(货号: 239658, 含量 $\geq 99\%$)、DEHP(货号: D201154, 含量 $\geq 99.5\%$) 均购于 Sigma-Aldrich 公司; 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)(货号: 20140520) 购于国药集团化学试剂有限公司; 供试品使用前以 0.5% 的 CMC-Na 均匀分散。大鼠 PGFS ELISA Kit(MBS9310151-96) 购于美国 MyBiosource 公司; Rabbit Anti-AKR1C3 Antibody(ab196673) 购于 Abcam 公司; 即用型免疫组化 UltraSensitive TM SP 试剂盒(鼠/兔)(货号: KIT9720)、粉剂型抗原修复

液(货号: MVS-0066)、DAB 显色试剂(20 $\times$)(货号: DAB-0031)、苏木素体细胞染色液(货号 CTS-1090)、PBS 磷酸盐缓冲液(粉型)(货号: PBS-0060) 均购自福州迈新生物科技有限公司。

低温水平式离心机(Allegra-12R, 美国 Beckman); 恒温振荡培养箱(SI-600R, 韩国杰奥特); 电脑洗板机(DNX-9620, 北京普朗新); Multiskan GO 全波长酶标仪(1510-04177C, Thermo Fisher Scientific); Leica 石蜡切片机(RM2126, 德国徕卡); Leica 全自动染色机(Leica ST5010 德国徕卡); 光学显微镜(DM3000, 德国徕卡)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组和给药

56 只 3 月龄雄性 SD 大鼠按照体重随机分为 7 组, 依次为对照组、BPA 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量组和 DEHP 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及 270 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量组, 每组 8 只动物, 分别灌胃(intragastric administration, i. g.) 给予 10 mL/kg 溶媒, 相应剂量的 BPA 和 DEHP, 连续 4 周。动物体重每周称量 1 次, 根据体重调整给药剂量, 于第 4 周末次给药 24 h 后, 腹腔注射 3% 戊巴比妥钠, 麻醉大鼠, 腹主动脉采血, 处死动物。

1.3.2 前列腺取材

动物处死后, 剖取前列腺组织, 并将其分为腹侧叶和背侧叶, 将各叶前列腺组织分为三部分, 一部分用 10% 的福尔马林溶液固定, 用于病理分析; 另外两部分均保存于液氮中, 用于进一步的分析。

1.3.3 ELISA 法检测 AKR1C3 水平

腹主动脉采血, 静置两小时后离心(3590 r/min, 15 min), 分离出血清。前列腺组织称重后剪碎按照 1:10(w:v) 比例加入生理盐水, 用手动匀浆器在冰上超声匀浆, 重复 3 次, 充分匀浆后离心(3590 r/min, 15 min), 收集匀浆上清液。ELISA 法检测血清和前列腺中 AKR1C3 水平。将所有的试剂平衡至室温; 蒸馏水稀释浓缩洗涤液, 用去离子水重配标准品至相应的浓度, 室温放置 10 min 备用。测定步骤如下:

加样: 加入标准品、样品、和样品稀释液(空白孔)至相应的孔中。

孵育: 每孔加入结合剂, 混合均匀, 封板膜封板后 37℃ 孵育 1 h。

洗涤: 撕掉封板膜后弃去液体, 设置洗板机注水量为 400 μL , 浸润 10 s, 震荡 5 s, 洗板 5 次, 洗涤

后用吸水纸拍干。

显色:每孔依次加入显色试剂,封板膜封板后 37℃避光孵育 10 min。

终止:每孔加入 50 μL 的终止液,混合均匀,终止反应(颜色由蓝色变为黄色)。

测定:15 min 以内用酶标仪进行测定(450 nm 波长)。

计算:拟合出标准曲线并生成曲线方程,带入样本 OD 值计算样本浓度。

1.3.4 免疫组化法检测 AKR1C3 表达情况

取前列腺腹侧叶和背侧叶组织,按照免疫组化试剂盒说明书进行如下操作:脱蜡水化:二甲苯(5 min/次,2 次)→无水乙醇(5 min/次,2 次)→95%乙醇(5 min/次,2 次)→75%乙醇(5 min/次,2 次)去离子水(3 min/次,3 次);抗原修复:切片浸没于 0.01 mol 原修复液中,微波修复 20 min,室温冷却,取出后 PBS 浸洗 2 min/次,3 次;内源性过氧化物酶阻断:每张切片滴加一滴试剂 A,室温孵育 10 min, PBS 浸洗 3 min/次,3 次;血清封闭:每张切片滴加一滴试剂 B,室温孵育 10 min;加一抗:每张切片加 50 μL 一抗(阴性对照用 PBS 替代),4℃孵育过夜, PBS 浸洗 3 min/次,3 次;加二抗:每张切片滴加一滴试剂 C,室温孵育 10 min;PBS 浸洗 3 min/次,3 次,每张切片滴加一滴试剂 C,室温孵育 10 min;PBS 浸洗 3 min/次,3 次;显色:配制 DAB 溶液(现用现配)每张切片加 100 μL 显色液,显微镜下观察显示棕黄色颗粒即终止显色;复染:苏木素复染 4 min,水化 1 min,盐酸分化 4 s,流水洗 11 min;干燥透明:75%乙醇(5 min/次,2 次)→95%乙醇(5 min/次,2 次)→无水乙醇(5 min/次,2 次)→二甲苯(5 min/

次,2 次);封片:中性树胶封片,显微镜下观察。

每组选取 6 个动物组织切片,随机观察每张切片的 10 个视野,切片出现的棕黄色颗粒为阳性反应,用 Image-Pro Plus 6.0 测定切片图像的平均光密度,进行蛋白表达的半定量统计,组间比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 表示差异具有显著性。

1.4 统计学方法

实验结果以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,使用 SPSS 26.0 软件进行统计分析,组间比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 表示差异具有显著性。

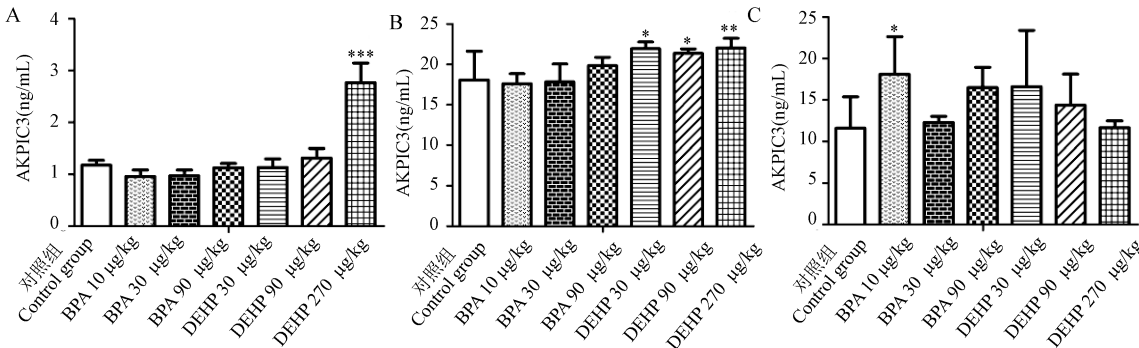
2 结果

2.1 AKR1C3 水平变化

ELISA 检测结果显示(图 1),给予 BPA 后,与对照组相比,各剂量组血清 AKR1C3 水平无显著性变化;腹侧前列腺 AKR1C3 的水平无明显变化,但 90 μg/kg 剂量组略高于对照组;背侧前列腺 AKR1C3 的水平升高,10 μg/kg 剂量组有显著性差异($P<0.01$)。给予 DEHP 后,随着剂量增加血清 AKR1C3 的水平上升,270 μg/kg 剂量组显著性高于对照组($P<0.001$);腹侧前列腺 AKR1C3 水平均显著性高于对照组($P<0.05, P<0.01$);背侧前列腺中,30 μg/kg 和 90 μg/kg 剂量组 AKR1C3 的水平高于对照组。(表 1)

2.2 前列腺组织中 AKR1C3 的表达情况

免疫组化结果显示,给予 BPA 后,与对照组相比,腹侧前列腺中,30 μg/kg 和 90 μg/kg 剂量组 AKR1C3 表达升高,且 90 μg/kg 剂量组有统计学意义($P<0.05$),背侧前列腺中,各剂量组 AKR1C3 表达均升高,10 μg/kg 剂量组有统计学意义($P<$



注:A:血清;B:腹侧前列腺;C:背侧前列腺。与对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ 。

图 1 BPA 和 DEHP 对 SD 大鼠血和前列腺组织中 AKR1C3 水平的影响

Note. A, Serum. B, Ventral prostatic lobe. C, Dorsal prostatic lobe. Compared with the control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

Figure 1 Effects of BPA and DEHP on the level of AKR1C3 in serum and prostate of SD rats

0.001);给予 DEHP 后,与对照组相比,腹侧前列腺中,各剂量组 AKR1C3 表达均升高,270 $\mu\text{g/kg}$ 剂量组有统计学意义($P<0.05$),背侧前列腺中,各剂量组 AKR1C3 表达也均升高,30 $\mu\text{g/kg}$ 和 90 $\mu\text{g/kg}$ 剂量组有统计学意义($P<0.001$, $P<0.05$) (见表 2,图 2~图 4)。

表 1 BPA 和 DEHP 对 SD 大鼠 AKR1C3 水平的影响($\bar{x}\pm s$, $n=8$)
Table 1 Effects of BPA and DEHP on AKR1C3 level in SD rats

组别 Groups	剂量($\mu\text{g/kg}$) Doses	血清(ng/mL) Serum	腹侧前列腺叶(ng/g) Ventral prostatic lobe	背侧前列腺叶(ng/g) Dorsal prostatic lobe
对照组 Control group	0	1.18 $\pm$ 0.09	18.08 $\pm$ 3.55	11.60 $\pm$ 3.78
	10	0.96 $\pm$ 0.13	17.61 $\pm$ 1.24	18.10 $\pm$ 4.57*
	30	0.98 $\pm$ 0.11	17.84 $\pm$ 2.22	12.30 $\pm$ 0.73
	90	1.13 $\pm$ 0.08	19.84 $\pm$ 1.06	16.52 $\pm$ 2.43
DEHP	30	1.14 $\pm$ 0.17	21.66 $\pm$ 1.36*	16.62 $\pm$ 6.79
	90	1.31 $\pm$ 0.18	21.25 $\pm$ 0.51*	14.39 $\pm$ 3.75
	270	2.76 $\pm$ 0.38***	22.03 $\pm$ 1.21**	11.67 $\pm$ 0.82

注:与对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ 。
Note. Compared with the control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

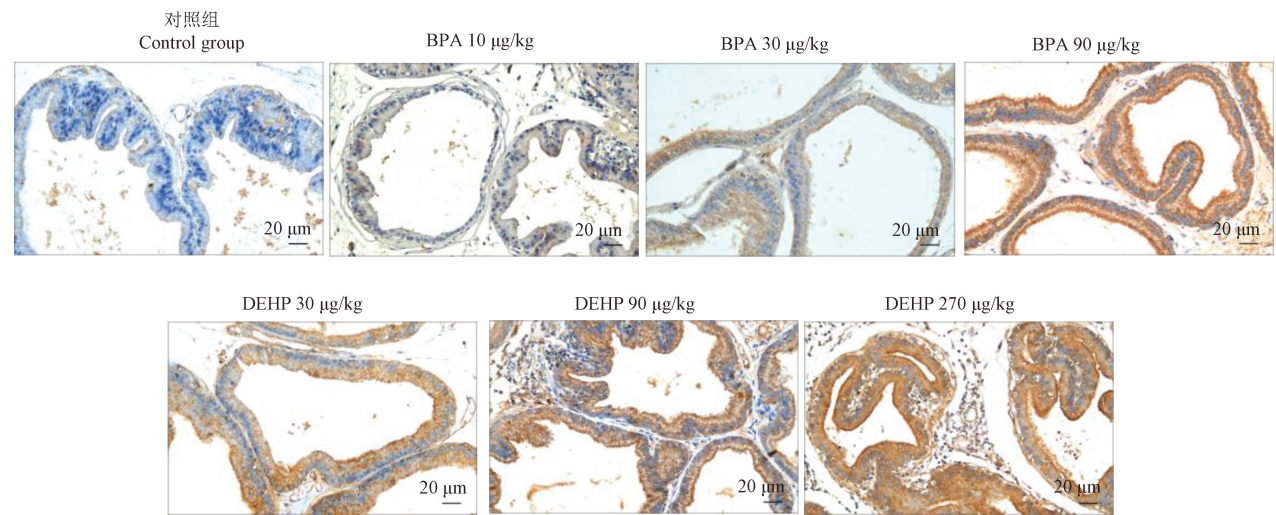


图 2 BPA 和 DEHP 对 SD 大鼠腹侧前列腺 AKR1C3 表达的影响

Figure 2 Effects of BPA and DEHP on the expression of AKR1C3 in ventral prostate of SD rats

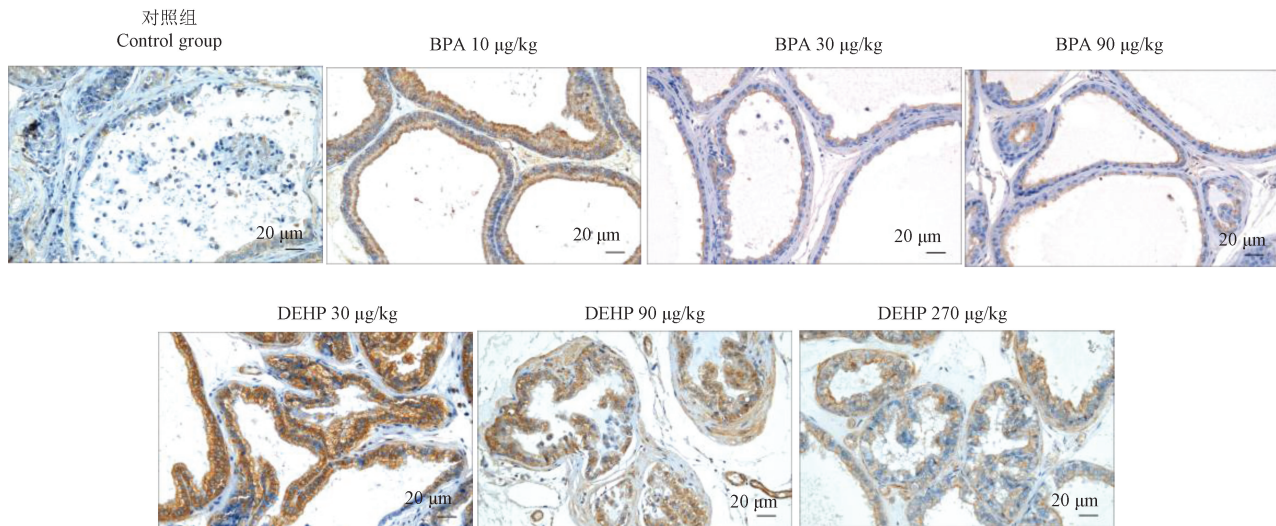
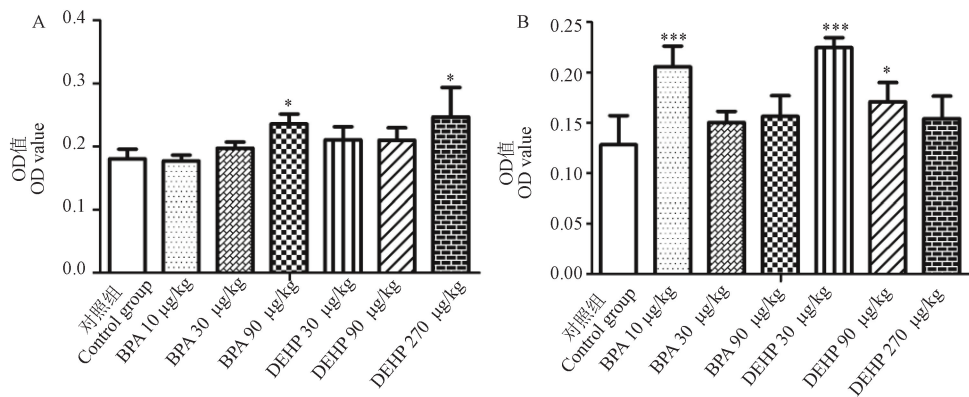


图 3 BPA 和 DEHP 对 SD 大鼠背侧前列腺 AKR1C3 表达的影响

Figure 3 Effects of BPA and DEHP on the expression of AKR1C3 in dorsal prostate of SD rats



注:A;腹侧前列腺;B;背侧前列腺。与对照组相比, * $P<0.05$, *** $P<0.001$ 。

图 4 BPA 和 DEHP 对 SD 大鼠前列腺 AKR1C3 表达的影响

Note. A, Ventral prostatic lobe. B, Dorsal prostatic lobe. Compared with the control group, * $P<0.05$, *** $P<0.001$.

Figure 4 Effects of BPA and DEHP on the expression of AKR1C3 in prostate of SD rats

表 2 BPA 和 DEHP 对 SD 大鼠前列腺 AKR1C3 表达的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)			
Table 2 Effects of BPA and DEHP on the expression of AKR1C3 in prostateOf SD rats			
组别 Groups	剂量($\mu\text{g/kg}$) Doses	腹侧前列腺 Ventral prostatic lobe	背侧前列腺 Dorsal prostatic lobe
对照组 Control group	0	0.181±0.015	0.128±0.029
	10	0.177±0.009	0.206±0.020***
BPA	30	0.197±0.010	0.151±0.011
	90	0.236±0.016*	0.157±0.021
DEHP	30	0.211±0.021	0.225±0.010***
	90	0.201±0.020	0.171±0.019*
	270	0.247±0.047*	0.154±0.022

注:与对照组相比, * $P<0.05$, *** $P<0.001$ 。

Note. Compared with the control group, * $P<0.05$, *** $P<0.001$.

3 讨论

BPA 和 DEHP 应用广泛,人们可以通过摄取、吸入、皮肤接触等多种途径暴露其中。本次研究发现,给予 10~90 $\mu\text{g/kg}$ 的 BPA 和 30~270 $\mu\text{g/kg}$ 的 DEHP 后,AKR1C3 水平和蛋白表达均升高,腹侧前列腺叶中高剂量组表现比较明显,而背侧前列腺叶中低剂量组表现更为明显,提示背侧前列腺叶对 BPA 和 DEHP 更敏感。曾有报道称在成纤维细胞生长因子-2(fibroblast growth factor-2, FGF-2)表达的转基因小鼠中,背侧前列腺上皮增生比腹侧叶明显,小鼠背侧前列腺可能与人前列腺周围带同源,而前列腺增生和前列腺癌几乎都源于移行带和周围带^[15]。有研究发现雌激素通过细胞核内受体途径促进奶牛输卵管平滑肌组织中 PGFS 的表达,而植物雌激素及其代谢物可以刺激 PGF2 α 的分泌,明

显增加前列腺素 FL2(prostaglandin FL2, PGFL2) 基因的表达,从而促进生殖细胞的活力和增殖^[16-17], BPA 和 DEHP 作为 2 种植物雌激素,与雌激素作用类似,可能通过同样的途径对 AKR1C3 的表达产生影响。

AKR1C3 是 PGFS 的一种,可催化强弱雄激素之间的转化以及弱雌激素转化为强雌激素,这种调节靶组织中雌雄激素局部浓度的作用使其成为多种激素依赖性病变的研究靶点。AKR1C3 可以激活 AR 信号诱导雄激素合成,不仅调节雄激素的生成,还可以作为 AR 的共激活因子以浓度依赖性方式激活 AR。AKR1C3 在前列腺素化合物合成中也有重要作用,分别催化 PGH2 和 PGD2 生成前列腺素 PGF2 α 、PGF9 α 和 11 β -PGF2,尤其对 PGD2 的催化活性最高^[18]。前列腺作为雄性生殖系统中重要的附属性腺器官,其生长发育与雌雄激素调节密切相关。在前列腺癌中,AKR1C3 过表达,能调节类固醇类激素,与前列腺腺素受体结合,激活依赖于生长因子的 MAP 激酶途径促进细胞增殖,还能促进肿瘤的侵袭性^[10]。此外,PGD2 和 NF- κ B 信号通路相关,AKR1C3 介导的 PGD2 缺失会抑制 NF- κ B 通路,AKR1C3 还可以直接与 NF- κ B 和雌激素受体 α (estrogen receptor- α , ER α) 的 DNA 结构域残基反应,使 NF- κ B 和 ER α 依赖性基因转录增加,从而促进肿瘤的发生^[11]。

综上所述,低剂量 BPA 和 DEHP 可以促进成年 SD 大鼠前列腺 AKR1C3 的表达,我们之前有关环境内分泌干扰物促进前列腺增生的研究,发现 AR 信号通路和 NF- κ B 信号通路在 BPH 的发展中均发挥

重要作用^[19-20],提示 AKR1C3 的过表达可能是 BPA 和 DEHP 引起前列腺增生的作用机制之一。但是,前列腺素合成酶在前列腺细胞增殖中的作用机制以及与雌雄激素受体之间的调控关系还需要进一步的研究。

参考文献:

[1] Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, et al. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement [J]. *Endocr Rev*, 2009, 30(4): 293-342.

[2] Matzkin ME, Pellizzari EH, Rossi SP, et al. Exploring the cyclooxygenase 2 (COX2)/15d-Δ(12, 14)PGJ(2) system in hamster Sertoli cells: regulation by FSH/testosterone and relevance to glucose uptake [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2012, 179(2): 254-264.

[3] Kim JY, Han EH, Kim HG, et al. Bisphenol A-induced aromatase activation is mediated by cyclooxygenase-2 up-regulation in rat testicular Leydig cells [J]. *Toxicol Lett*, 2010, 193(2): 200-208.

[4] Serrano SE, Braun J, Trasande L, et al. Phthalates and diet: a review of the food monitoring and epidemiology data [J]. *Environ Health*, 2014, 13(1): 43.

[5] Koch HM, Preuss R, Angerer J. Di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): human metabolism and internal exposure—an update and latest results [J]. *Int J Androl*, 2006, 29(1): 155-165.

[6] Wu J, Huang D, Su X, et al. Oral administration of low-dose bisphenol A promotes proliferation of ventral prostate and upregulates prostaglandin D₂ synthase expression in adult rats [J]. *Toxicol Ind Health*, 2016, 32(11): 1848-1858.

[7] Huang DY, Zheng CC, Pan Q, et al. Oral exposure of low-dose bisphenol A promotes proliferation of dorsolateral prostate and induces epithelial-mesenchymal transition in aged rats [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 490.

[8] Huang D, Wu J, Su X, et al. Effects of low dose of bisphenol A on the proliferation and mechanism of primary cultured prostate epithelial cells in rodents [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(3): 2635-2642.

[9] 杨光锐, 管又飞. 前列腺素 E₂ 合酶的研究进展 [J]. *生理科学进展*, 2006, 37(2): 182-186.

[10] Lacroix P  pin N, Chapdelaine P, Fortier MA. Evaluation of the prostaglandin F synthase activity of human and bovine Aldo-keto reductases: AKR1A1s complement AKR1B1s as potent PGF synthases [J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2013, 106:

124-132.

[11] Liedtke AJ, Adeniji AO, Chen M, et al. Development of potent and selective indomethacin analogues for the inhibition of AKR1C3 (Type 5 17 -hydroxysteroid dehydrogenase/prostaglandin F synthase) in castrate-resistant prostate cancer [J]. *J Med Chem*, 2013, 56(6): 2429-2446.

[12] 吴双双, 吴建辉, 孙祖越. 前列腺素合成酶基因调控与前列腺疾病关系的研究进展 [J]. *中华男科学杂志*, 2017, 23(7): 663-667.

[13] Liu C, Yang JC, Armstrong CM, et al. AKR1C3 promotes AR-V7 protein stabilization and confers resistance to AR-targeted therapies in advanced prostate cancer [J]. *Mol Cancer Ther*, 2019, 18(10): 1875-1886.

[14] Wu S, Huang D, Su X, et al. The prostaglandin synthases, COX-2 and L-PGDS, mediate prostate hyperplasia induced by low-dose bisphenol A [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 13108.

[15] Konno-Takahashi N, Takeuchi T, Nishimatsu H, et al. Engineered FGF-2 expression induces glandular epithelial hyperplasia in the murine prostatic dorsal lobe [J]. *Eur Urol*, 2004, 46(1): 126-132.

[16] 黄娜. 雌激素对奶牛输卵管平滑肌前列腺素 E₂ 和 F_{2 } 合成及其受体表达调控的影响 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2015.

[17] Woclawek-Potocka I, Okuda K, Acosta TJ, et al. Phytoestrogen metabolites are much more active than phytoestrogens themselves in increasing prostaglandin F_{2 } synthesis via prostaglandin F_{2 } synthase-like 2 stimulation in bovine endometrium [J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2005, 78(1-4): 202-217.

[18] Byrns MC, Steckelbroeck S, Penning TM. An indomethacin analogue, N-(4-chlorobenzoyl)-melatonin, is a selective inhibitor of Aldo-keto reductase 1C3 (type 2 3 -HSD, type 5 17 -HSD, and prostaglandin F synthase), a potential target for the treatment of hormone dependent and hormone independent malignancies [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 75(2): 484-493.

[19] Wang K, Huang D, Zhou P, et al. BPA-induced prostatic hyperplasia *in vitro* is correlated with the unbalanced gene expression of AR and ER in the epithelium and stroma [J]. *Toxicol Ind Health*, 2021, 37(10): 585-593.

[20] Wang K, Huang D, Zhou P, et al. Individual and combined effect of bisphenol A and bisphenol AF on prostate cell proliferation through NF- B signaling pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(20): 12283.

[收稿日期] 2022-02-25